

**Sterile liquid composition for pulmonary administration in aerosol form comprises a sparingly water-soluble drug in the form of suspended particles of defined size**

**Publication number:** DE10145361

**Publication date:** 2003-04-03

**Inventor:** KELLER MANFRED (DE); LINTZ FRANK (DE)

**Applicant:** PARI GMBH (DE)

**Classification:**

**- international:** A61K31/137; A61K31/167; A61K31/17; A61K31/19; A61K31/282; A61K31/337; A61K31/415; A61K31/4174; A61K31/4196; A61K31/426; A61K31/427; A61K31/436; A61K31/445; A61K31/46; A61K31/4709; A61K31/496; A61K31/52; A61K31/522; A61K31/568; A61K31/57; A61K31/573; A61K31/58; A61K31/7048; A61K31/7072; A61K45/06; A61K9/10; A61K31/137; A61K31/167; A61K31/17; A61K31/185; A61K31/28; A61K31/337; A61K31/415; A61K31/4164; A61K31/4196; A61K31/426; A61K31/427; A61K31/4353; A61K31/445; A61K31/46; A61K31/4709; A61K31/496; A61K31/519; A61K31/568; A61K31/57; A61K31/58; A61K31/7042; A61K45/00; A61K9/10; (IPC1-7): A61K9/12; A61K31/568

**- european:** A61K9/00M20B; A61K31/137; A61K31/167; A61K31/17; A61K31/19; A61K31/282; A61K31/337; A61K31/415; A61K31/4174; A61K31/4196; A61K31/426; A61K31/427; A61K31/436; A61K31/445; A61K31/46; A61K31/4709; A61K31/496; A61K31/52; A61K31/522; A61K31/568; A61K31/57; A61K31/573; A61K31/58; A61K31/7048; A61K31/7072; A61K45/06

**Application number:** DE20011045361 20010914

**Priority number(s):** DE20011045361 20010914

**Report a data error here**

**Abstract of DE10145361**

Sterile liquid composition for pulmonary administration in aerosol form comprises a sparingly water-soluble drug in the form of suspended particles with an average size of 0.5-2 microns. An Independent claim is also included for production of such a composition by preparing a surfactant-containing suspension of the drug in the form of particles with an average size above 1 micron, reducing the average particle size to less than 1 micron and heat-sterilizing the suspension.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

⑬ **BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 101 45 361 A 1**

⑤ Int. Cl.<sup>7</sup>:  
**A 61 K 9/12**  
A 61 K 31/568

⑦ Aktenzeichen: 101 45 361.2  
② Anmeldetag: 14. 9. 2001  
④ Offenlegungstag: 3. 4. 2003

**DE 101 45 361 A 1**

⑦ Anmelder:  
Pari GmbH, 82319 Starnberg, DE

⑦ Erfinder:  
Keller, Manfred, Dr., 79189 Bad Krozingen, DE;  
Lintz, Frank, Dr., 82319 Starnberg, DE

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

⑤ Verfahren zur Herstellung von flüssigen, sterilen Zubereitungen zur Inhalation

⑤ Verfahren zur Herstellung einer stabilen, flüssigen und sterilen wässrigen Zubereitung zur inhalativen Applikation eines in Wasser schwerlöslichen Wirkstoffes in Form eines Aerosols, durch Herstellung einer wässrigen Suspension, Teilchengrößenreduktion mittels geeigneter Teilchenreduktionsverfahren auf die angestrebte Teilchengröße und Anwendung eines Hitzesterilisationsverfahrens. Bei der Sterilisation kann auf die Zugabe von zusätzlichen stabilisierenden Hilfsstoffen verzichtet werden, da die Teilchengröße durch den Sterilisationsprozeß nur unwesentlich verändert wird.

**DE 101 45 361 A 1**

## Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft pharmazeutische Zubereitungen, insbesondere wässrige Zubereitungen zur Inhalation als Aerosol. Sie betrifft ferner Verfahren zur Herstellung solcher Zubereitungen in steriler Form.

5

## Einleitung

- [0002] Aerosole sind Systeme, deren disperse Phase sich im Schwebzustand in einem gasförmigen Medium befindet und beispielhaft als Staubaerosol (fest in Luft) oder Nebel (flüssig in Luft) beschrieben werden können. Die schwebenden Teilchen weisen Durchmesser von 0.001–100 µm auf und entsprechen somit in ihrer Größe z. B. Proteinen bis Nebeltröpfchen. Die wissenschaftliche Inhalationstherapie entstand Anfang des 19. Jahrhunderts. Claude-Bernhard hat bereits 1857 auf die gute Resorptionsfähigkeit der Lunge für Medikamente hingewiesen, und entscheidende Grundlagen der Inhalationstherapie zur Eindringtiefe in die Lunge wurden von Hommel bereits 1910 und von Häubner 1920 publiziert. Findeisen hat 1935 erstmalig das Absetzen kleiner in der Luft suspendierter Teilchen in der menschlichen Lunge bei der Atmung experimentell und mathematisch beschrieben, und seine Tabellen zur regionalen Aerosoldeposition im Bronchialbaum wurden im Wesentlichen später bestätigt. Dautrebande hat 1952 Flüssigaerosole anatomisch und physiologisch charakterisiert und somit wurde bereits in den 50er Jahren die Basis der modernen Inhalationstherapie erarbeitet; einen guten Überblick gibt das in 2000 erschienene Buch von D. Köhler und W. Fleischer: Theorie und Praxis der Inhalationstherapie, Arcis Verlag GmbH, München, ISBN 3-89075-140-7.
- [0003] Die Behandlung von Lungenerkrankungen mittels Aerosolen erlaubt eine gezielte Arzneitherapie, da der Wirkstoff mittels Inhalationsgeräten direkt an den Zielort gebracht werden kann. Voraussetzung ist, dass die inhalierten Tröpfchen bzw. Partikel das Zielgewebe erreichen und dort abgelagert werden. Die Einflüsse auf Aerosolherzeugung und Deposition werden im wesentlichen von 3 Faktoren beeinflusst, die sich wie folgt untergliedern lassen:

1. den biologisch-physiologischen Faktoren, die gekennzeichnet sind durch:
  - die Art des Atemmanövers, wie Atemfrequenz, -fluss, -geschwindigkeit, und -volumen,
  - der Anatomie des Respirationstraktes insbesondere der Glottisregion
  - dem Alter und Gesundheits- bzw. Erkrankungszustand der Menschen bzw. Patienten
2. dem Tröpfchen bzw. Partikelspektrum, das beeinflusst wird durch:
  - die Art und Konstruktion des Inhalationsgerätes
  - die Zeit zwischen Erzeugung und Inhalation (Abtrocknungseigenschaften)
  - der Modifikation des Tröpfchen- bzw. Partikelspektrums durch den Inhalationsfluss
  - der Stabilität bzw. Integrität der erzeugten Aerosolwolke
3. dem Wirkstoff bzw. der Medikamentenformulierung, deren Eigenschaften beeinflusst werden durch:
  - die Partikelgröße
  - die Darreichungsform (z. B. Lösung, Suspension, Emulsion, Liposomendispersion)
  - die Form und Oberflächeneigenschaften des Wirkstoffes bzw. der Formulierung (glatte Kugeln oder gefaltete poröse Strukturen)
  - die Hygroskopie (beeinflusst Wachstum der Partikel)
  - die Grenzflächeneigenschaften, wie Benetzbarkeit und Spreitbarkeit
  - den Verdunstungs- bzw. Evaporationseigenschaften des Trägermediums

45

## Aerosole und ihr Depositionsverhalten

[0004] Zusammensetzung und Form der Aerosole sind sehr variantenreich. Für praktische Zwecke ist es sinnvoll oberhalb von Durchmessern größer 0.5 µm, die Beschreibung eines Partikels auf sein Depositionsverhalten zu standardisieren, da dann im wesentlichen nur die gewichtsabhängige Sedimentation und Impaktion als Abscheidungsmechanismus in Betracht kommen. Dafür wird das in Betracht gezogene Partikel (Durchmesser  $d_0$ ) der Dichte  $\rho$  mit einer gleich schnell sedimentierenden Kugel der Dichte von Wasser ( $\rho = 1 \text{ g/cm}^3$ ) verglichen und der Kugeldurchmesser als aerodynamischer Durchmesser ( $d_{ae}$ ) bezeichnet:  $d_{ae} = d_0 \rho$ .

[0005] Der aerodynamische Durchmesser ist von der Größe, Dichte, Form und Orientierung des Partikels abhängig. Üblicherweise hat man es in der Praxis mit einer hetero- oder polydispersen Größenverteilung zu tun, d. h. mit einem Partikelgemisch unterschiedlicher Größe. Handelt es sich dabei um Aerosole gleicher Struktur (z. B. aus einem Vernebler), so kann der mediane aerodynamische Massendurchmesser (MMAD) mit einer Zahl beschrieben werden. Dabei sind 50% der Aerosolmasse größer und 50% kleiner als der MMAD. Die Breite der Verteilung wird durch Perzentile angegeben, z. B. 10% und 90% Perzentil. Diese Zahlen geben an, bis zu welcher Partikelgröße nur weniger als 10% bzw. ab welcher Partikelgröße nur noch 10% der Masse vorliegen. Symmetrische Verteilungen, die annähernd normal verteilt sind, können durch die geometrische Standardabweichung (GSD = Geometric Standard Deviation) charakterisiert werden. Die GSD ist dimensionslos und größer als 1 und ein Maß für die symmetrische Partikelverteilung einer Aerosolwolke.

[0006] Wenn bei einem Aerosol von Größenverteilungen gesprochen wird, so muss unbedingt angegeben werden, ob es sich um die Zahl der Partikel, das Volumen oder die Masse handelt. Da die Masse von der dritten Potenz des Durchmessers abhängt, lässt sich errechnen, dass ein Partikel von 10 µm der Masse von 1000 Partikel von 1 µm entspricht. Für die biologische Wirkung von Medikamentenaerosolen ist überwiegend die aerodynamische Massenverteilung des Aerosolspektrums wesentlich, da ein deponiertes Aerosolpartikel sofort in der wässrigen Phase des Bronchialschleims (Mucus und periziliäre Flüssigkeit bzw. epithelium lining fluid) gelöst wird und damit die gesamte Substanz zur Verfügung steht. Dies gilt auch für wasserlösliche Feststoffpartikel aus Pulververneblern. Selbst schlecht wasserlösliche Substan-

zen, wie z. B. Beclomethason werden wegen der geringen Partikelgröße innerhalb von wenigen Minuten aufgelöst. Anders stellt sich die Situation für nichtlösliche Partikel dar oder solche, deren Löslichkeit und Freisetzung durch pharmazeutisch technologische Massnahmen (z. B. Liposomen) modifiziert wurde.

[0007] Seit kurzem weiß man, dass bei unlöslichen Partikeln, wie z. B. Kohlenstaub, die als ultrafeine Aerosole (Durchmesser unter  $0.1\ \mu\text{m}$ ) in die Lunge gelangen, der Grad der Toxizität linear mit der Gesamtoberfläche der Partikel zunimmt, da sie zu einer Entzündung in der Bronchialwand und im Interstitium führen. Bei größeren unlöslichen Partikeln spielt die Form eine Rolle, wenn sie sich stark von einer Kugel entfernt. Als Beispiel hierfür steht die Toxikologie der Asbestfaser, die als ganze nicht mehr von Makrophagen phagozytiert werden kann.

[0008] Aerosole sind je nach Zusammensetzung von kurzer oder langer Lebensdauer und ihre Partikelgröße ist Änderungen unterworfen, die von den chemisch physikalischen Eigenschaften der Formulierungsbestandteile beeinflusst werden. Kleine wässrige Partikel verdampfen je nach Luftfeuchtigkeit rasch zu einem Feststoffkern, so dass die Konzentration der gelösten Substanz bei völliger Verdampfung 100% beträgt. Der resultierende Durchmesser ( $d_2$ ) ausgehend vom ursprünglichen Durchmesser ( $d_1$ ) entspricht der dritten Wurzel aus dem Konzentrationsverhältnis vor ( $c_1$ ) und nach ( $c_2$ ) Schrumpfung (Dichte von  $1\ \text{g/cm}^3$  für die gelöste Substanz vorausgesetzt) gemäß der Formel:  $d_2 = d_1 \sqrt[3]{(c_1/c_2)}$ . So führt z. B. die Trocknung von Brandungs aerosolen durch den Wind bei einem Meerwassertropfen ( $c_1 = 3,6\%$ ) von  $20\ \mu\text{m}$  zu einem Salzpartikel mit einem Durchmesser von ca.  $6,7\ \mu\text{m}$ , womit es dann lungengängig geworden ist. Dieser Effekt wird z. B. in Flüssigverneblern ausgenutzt, um durch Abtrocknungseffekte (z. B. Erwärmung mittels PARI Therm) oder Zumischung trockener Luft die Partikelgröße zu verkleinern.

[0009] Umgekehrt können Partikel in feuchter Umgebung wachsen, und dieses Wachstum ist besonders abhängig von der Hygroskopie des Wirk- und/oder Hilfsstoffs. Beispielsweise benötigt ein trockenes Natriumchlorid Partikel von  $0,5\ \mu\text{m}$  etwa 1 Sekunde bis zum vollständigen Wachstum, bei einem  $5\ \mu\text{m}$  Partikel dauert dies etwa 10 Sekunden, was ein Beleg dafür ist, dass die Geschwindigkeit in Bezug auf das Partikelwachstum ebenfalls größenabhängig ist. Feststoffpartikel aus Pulververneblern und Dosieraerosolen können bis zum 4–5fachen ihrer ursprünglichen Größe anwachsen, da im Bronchialbaum eine Luftfeuchtigkeit von 95–100% vorherrscht.

### Impaktion

[0010] Aerosolpartikel bzw. -tröpfchen folgen den Stromlinien ihres Trägergases, wenn sie nicht zu groß sind. Etwa ab  $2\text{--}3\ \mu\text{m}$  wird die Massenträgheit des Aerosolpartikels relevant. Es hat dann das Bestreben, bei Richtungsänderung des Gases weiter geradeaus zu fliegen. Damit erhöht sich die Depositionswahrscheinlichkeit durch Impaktion. Die Depositionswahrscheinlichkeit (DE) ist proportional dem Quadrat des Durchmessers ( $d$ ) und dem Fluss ( $V$ ):  $DE \approx d^2 V$ .

[0011] Aus dieser Korrelation erklärt sich, weshalb bei Dosieraerosolen und vielen Pulverinhalatoren, die eine hohe Austrittsgeschwindigkeit der Aerosolwolke aufweisen, trotz kleiner Partikeldurchmesser in-vivo ein hoher Prozentsatz (70–90%) oropharyngeal abgeschieden wird.

### Sedimentation

[0012] Die Bewegung der Aerosolpartikel wird auch durch die Schwerkraft bestimmt und ist insbesondere in einem Partikelgrößenbereich von  $0,5\text{--}4\ \mu\text{m}$  der relevante Depositionsmechanismus. Die Sinkgeschwindigkeit ( $v_s$ ) hängt für praktische relevante Bereiche ab vom Quadrat des Partikeldurchmessers ( $d$ ), der Gravitationskonstante ( $g$ ), der Partikeldichte ( $\rho$ ) und der Viskosität des Gases ( $\eta$ ). Wenn man die für die Partikelbereiche unter  $1\ \mu\text{m}$  erforderliche Gleitkorrektur wegen der nicht mehr vorhandene Kontinuität des Gases und den Auftrieb vernachlässigt, ergibt sich für die Sinkgeschwindigkeit in Luft folgende Beziehung:  $v_s = d^2 g \rho / 18 \eta$ . Die Formel soll durch folgendes Beispiel erläutert werden: ein wässriges Partikel mit einem Durchmesser von  $6\ \mu\text{m}$  fällt infolge der Schwerkraft bei normaler Atmung im Bronchialsystem etwa  $0,44\ \text{mm}$ , wenn seine Verweilzeit in den zuführenden Atemwegen (anatomischer Totraum) etwa  $0,4$  Sekunden beträgt. Dieses Partikel könnte theoretisch die 16. Bronchialgeneration erreichen, wird im Mittel aber bei der 12. Bronchialgeneration bzw. aufgrund von Impaktionseffekten noch zentraler deponieren.

### Regionales Depositionsverhalten unter Berücksichtigung der verschiedenen Einflussgrößen

[0013] Die Frage, wo Aerosolpartikel im Bronchialbaum deponieren, ist seit Jahren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Diese werden ergänzt durch immer besser werdende Berechnungsmodelle der Lungendeposition. Das regionale Depositionsmuster bei Mundatmung weist durch das Atemmanöver und die unterschiedliche Anatomie des Bronchialbaums eine hohe Variabilität auf. Der häufig in der Literatur genannte lungengängige Größenbereich von  $0,5\text{--}6\ \mu\text{m}$  berücksichtigt weder die überlappenden Depositionsbereiche noch die quantitativen bzw. prozentualen Depositionsraten.

[0014] Bei Mundatmung werden etwa 40–60% der Partikel im Bereich von  $2,5\text{--}4,5\ \mu\text{m}$  bevorzugt im Alveolarbereich deponiert. Eine bronchiale Deposition in der Größenordnung von etwa 5–28% weisen Partikel von 2 bis  $8\ \mu\text{m}$  auf, parallel dazu nimmt die oropharyngeale Deposition zu. Die Abscheidung im Oropharynx beträgt für Partikel von  $6\ \mu\text{m}$  bereits 25–45% und steigt auf 60–80% für Partikel mit  $10\ \mu\text{m}$  Durchmesser. Hieraus leitet sich ab, dass für eine optimale qualitative und quantitative alveolare Deposition Partikelgrößen von  $1,5\text{--}3\ \mu\text{m}$  günstig sind, wenn die oropharyngeale und bronchiale Deposition möglichst niedrig sein sollen. Die bronchiale Deposition mit etwa 18–28% für Partikel im Größenbereich von  $6\text{--}9\ \mu\text{m}$  ist relativ gering und geht immer mit einer entsprechenden höheren oropharyngealen Deposition einher. Diese ist eigentlich von Nachteil, da hier der Targetbereich für die lokale Inhalationstherapie mit Beta-Agonisten und Anticholinergika liegt.

[0015] Die Deposition der Aerosolpartikel im Respirationstrakt wird im wesentlichen von folgenden vier Parametern bestimmt: Der Partikelgröße, der Partikelgeschwindigkeit, der Geometrie der Atemwege und der Inhalationstechnik bzw. dem Atemmanöver. Gemäß dem Stokes'schen Gesetz kann abgeleitet werden, dass Strömungsgeschwindigkeit und Dichte der Aerosolpartikel von Bedeutung sind, weshalb als Messgröße für das Depositionsverhalten im Respirationstrakt

trakt der aerodynamische und nicht der geometrische Partikeldurchmesser herangezogen wird. Aus verschiedenen Untersuchungen ist bekannt, dass für die pulmonale Therapie nur Tröpfchen- oder Partikelgrößen mit einem aerodynamischen Durchmesser von etwa 0,6–6 µm einsetzbar sind. Partikel mit einem aerodynamischen Durchmesser etwa größer 6 µm impaktieren im oberen Respirationstrakt, solche kleiner 0,6 µm werden nach der Inhalation wieder ausgeatmet. Dies bedeutet, dass z. B. Pulver mit sehr geringer Dichte und einem aerodynamischen Durchmesser von ca. 3 µm einen geometrischen Durchmesser von z. B. größer 10 µm aufweisen können. Hingegen ist bei wässrigen Systemen mit einer Dichte von etwa 1 mg/cm<sup>3</sup> der geometrische und aerodynamische Durchmesser annähernd gleich.

#### Stand der Technik

**[0016]** Zur Applikation von Wirkstoffen werden heute überwiegend treibgasgetriebene Dosieraerosole, Pulverinhalatoren und Flüssig-Vernebler eingesetzt. Letztere überführen Flüssigkeiten mittels Düsen oder Ultraschall in Aerosole mit unterschiedlichem Tröpfchendurchmesser. Generell eignen sich Tröpfchen oder Partikel zwischen 3 und 6 µm mehr für eine topische oder lokale Therapie, z. B. zur Behandlung von Asthma, während Partikel kleiner 3 µm eher systemisch absorbiert werden, d. h. der Wirkstoff gelangt im peripheren Lungenbereich über eine überwiegend alveoläre Absorption in den Blutkreislauf und von dort an die Zielorte im Körper. Die Vor- und Nachteile der verschiedenen Inhalatoren und die Möglichkeiten, die systembedingten Nachteile zu kompensieren, wurden von M. Keller in [Development and Trends in Pulmonary Drug Delivery, *Chimica Oggi, Chemistry today*, No. 11/12, 1998] diskutiert. Von besonderer Bedeutung für eine Verbesserung der Inhalationseffizienz ist die Abstimmung und Optimierung von Inhalationsgerät und Arzneistoffformulierung. Dies setzt voraus, dass man die Depositionsmechanismen und die Stärken bzw. Schwächen der verschiedenen Systeme kennt und dann eine entsprechende Optimierung vornimmt.

**[0017]** Die Akzeptanz von Verneblern ist im Vergleich zu Dosieraerosolen und Pulverinhalatoren bei einem großen Teil der Anwender deshalb geringer, weil die Behandlungszeit im Durchschnitt 5–10 Minuten oder länger beträgt. Von Nachteil ist desweiteren, dass z. B. bei Düsenverneblern i. d. R. ein Teil des eingesetzten Medikamentes systembedingt nicht vernebelt werden kann. Untersuchungen zeigen jedoch, dass die Behandlungsdauer von 9,1 min auf 1,3 min verkürzt, und das Füllvolumen im Vernebler von 3,5 ml auf 1 ml reduziert werden kann, wenn man z. B. eine unverdünnte Salbutamol-Lösung verwendet. [N. Luangkhot et. al., *Aerosole in der Inhalationstherapie IV*, 1999, Seiten 98–103]. Dieses Beispiel zeigt, dass höher konzentrierte Lösungen vorteilhafterweise eingesetzt werden können, ohne dass sich die Aerosoleigenschaften in-vitro verändern. Dies lässt sich im Laborversuch mit einem Atemzugsimulator aus dem Depositionsverhalten des Wirkstoffs auf Inhalations- und Exhalationsfiltern nachweisen [N. Luangkhot et. al.; *Characterisation of salbutamol solution compared to budesonide suspensions consisting of submicron and micrometer particles in the PARI LC STAR and a new PARI Electronic Nebuliser (e-Flow)*. *Drug delivery to the Lungs XI*, 11 & 12. 12. 2000, p. 14–17]. Sofern der Arzneistoff eine hinreichende Löslichkeit und Stabilität in Wasser oder Kochsalzlösung besitzt und die chemisch physikalischen Charakteristika sich nicht verändern, kann die Therapie mittels Vernebler vereinfacht und damit auch verbessert werden.

**[0018]** Schwieriger gestaltet sich die Vernebelung von wasserunlöslichen Substanzen, wie z. B. Kortikosteroiden oder Substanzen, die in wässriger Lösung instabil sind. Diese werden deshalb bevorzugt als Suspensionen formuliert, d. h. der mikronisierte Wirkstoff liegt fein dispergiert in Wasser vor. Je kleiner nun die Partikelgröße des Wirkstoffes und je geringer der Dichteunterschied von Wirkstoff und Dispergiermedium, desto länger bleibt der Wirkstoff in Schwebelage, d. h. desto langsamer erfolgt in der Regel eine Sedimentation. Zwecks besserer Benetzung der lipophilen Wirkstoffoberfläche mit Wasser wird meist ein amphiphiles Tensid zugesetzt, das jedoch inhalationstoxikologisch unbedenklich sein muss, um unerwünschte Nebenwirkungen zu vermeiden. Als Beispiel soll Pulmicort® herangezogen werden, das in zwei Dosierstärken von 0,5 mg und 1 mg Budesonid pro 2 ml im Handel ist. Budesonid liegt suspendiert in Kochsalzlösung vor, die mit Citronensäure und Natriumcitrat gepuffert ist und als oberflächenaktives Netzmittel Polysorbat 80 (= Tween® 80) enthält. Von Nachteil ist, dass sich die Aerosolcharakteristik während der Vernebelung verändern kann. Dies lässt sich z. B. aus der Erhöhung der Budesonid Konzentration in der nicht vernebelten residualen Suspension ableiten. Dieser Effekt lässt sich u. a. damit erklären, dass größere Partikel durch Aerosoltröpfchen, die einen kleineren Durchmesser aufweisen, nicht transportiert werden können und deshalb als Rückstand im Vernebler verbleiben.

**[0019]** Alternativ zu Lösungen und Suspensionen wurde geprüft, ob und in wie weit die Vernebelung von Liposomen, die mit hydrophilen oder lipophilen Substanzen beladen sind, Vorteile bietet. Liposomen sind kugelförmige Vesikel mit in sich abgeschlossenen Membranlamellen, die einen wässrigen Innenraum von einer kontinuierlichen wässrigen Phase abtrennen. Die Membranen bestehen aus mindestens einer Lipiddoppelschicht amphiphiler Lipide, deren hydrophile Molekülteile zur jeweils wässrigen Seite gerichtet sind, und deren lipophile Teile den hydrophoben Innenbereich der Membran bilden. Sie werden hauptsächlich aus Phospholipiden, Cholesterol und Glykolipiden hergestellt. Die Durchmesser variieren zwischen ca. 20 nm und mehreren Mikrometern. Die Membranen haben etwa eine Dicke von 5 nm, abhängig von der Anzahl der Lamellen. Durch die Wahl der Membranlipide, der Größe und der Membranstärke können die Eigenschaften des Liposoms den jeweiligen Anforderungen angepasst werden. Von besonderem Interesse ist das Erzielen eines Depoteffektes und der Einsatz im Bereich des Drug-Targeting. Für die Aerosoltherapie eröffnet dies die Möglichkeit, die Häufigkeit der Inhalationen von Wirkstoffen mit kurzer Halbwertszeit zu reduzieren und damit die Compliance der Patienten zu verbessern. Darüber hinaus ist die Erhöhung der Wirkstoffkonzentration in bestimmten Zielzellen der Lunge denkbar, was eine Reduktion der Dosis des eingesetzten Medikamentes ermöglichen sollte.

**[0020]** Die Stabilität der Liposomen insbesondere während der Lagerung und gegenüber der Vernebelung ist eine wichtige Voraussetzung für eine erfolgreiche Inhalationstherapie mit liposomal verpackten Wirkstoffen. Untersuchungen von Washkowitz et al. (*Aerosole in der Inhalationstherapie IV*, 1999, Seiten 83–90) zeigen, dass Ultraschallvernebler die Stabilität von Liposomen stark beeinträchtigen, und auch bei Düsenverneblern abhängig von der Lipidzusammensetzung etwa 20–30% des Wirkstoffes nicht mehr liposomal verpackt sind.

**[0021]** Die Herstellung von partikulären Systemen im Nanobereich und deren Verwendung als Träger für Wirkstoffe und Vakzine ist seit mehr als 20 Jahren bekannt. [J. Kreuter: *Nanoparticles and nanocapsules – new dosage forms in the*

nanometer size range; Pharm. Acta Helv. 53 (1978). p. 33–39; J. J. Marty et al.: Nanoparticles – a new colloidal drug delivery system; Pharm Acta Helv. 53 (1978) p. 17–23; J. Kreuter: Possibilities of using nanoparticles as carrier for drug and vaccines; J. Microencapsulation, 5 (1988) p. 101–114]. Die Herstellung nanopartikulärer Systeme mittels Hochdruckhomogenisationsverfahren, wie z. B. Microfluidization wurde ebenfalls bereits vor mehr als 10 Jahren publiziert [F. Koosha and R. Müller: Nanoparticle Production by Microfluidization; Archiv der Pharmazie 321 (1988) 680; R. Bo-  
meier, and H. Chen: Indometacin Polymeric Nanosuspension prepared by Microfluidization; J. Contr. Rel. 12, (1990) p. 223–233]. Aus der Literatur ist also bekannt, wie man Submikronsysteme herstellen kann. Eine besondere Ausführungsform zur Herstellung von Nanosuspensionen mittels Hochdruckhomogenisation, die in der zuvor publizierten Literatur bereits nahegelegt ist, findet sich in WO 96/14830. Hier wird die Verwendung verschiedener oberflächenmodifizierender Hilfsstoffklassen zur Herstellung von Nanosuspensionen für die Applikation eines Großteils der bekannten medi-  
zinischen Wirkstoffe als erfindungsgemäß beansprucht. Beispielhaft wurde für eine Nanosuspension enthaltend 2%–3% des Wirkstoffs RMKP, 0.3% Tween® 80 und 16.7 g Mannitol ad 100 ml eine Sterilisation mittels Gamma-Bestrahlung durchgeführt. Die Partikelgröße erhöhte sich nach der Sterilisation für die Formulierung A von 890 auf 1222 µm und für die Formulierung B von 60 auf 165 µm. Überprüft wurde jedoch nicht, ob und wie weit sich die Stabilität dieser Formulierungen nach Lagerung bei verschiedenen Temperaturbedingungen verändert. Angemerkt sei ebenfalls, dass aufgrund  
des hohen Mannitolanteils die Formulierung hyperosmolar ist und sich deshalb auch nicht für eine Vernebelung eignet. Die beschriebene gamma-Sterilisation ist zwar als Verfahren anerkannt und zugelassen, setzt aber einen großen materiellen und finanziellen Aufwand voraus. Auch gilt dieses Verfahren für flüssige Zubereitungen nicht als Mittel der Wahl. Einfacher von der Handhabung und den regulatorischen Aspekten ist die Hitzesterilisation mittels gespannten Wasserdampfes (121°C, 2 bar). Auch ein solches Verfahren ist in WO 96/14830 beschrieben (Beispiel 12). Hiernach kommt es  
in Abhängigkeit der Tensidkonzentration zu einem erheblichen Partikelwachstum. Die suspendierten Partikel erreichen Durchmesser, die sie zur inhalativen Applikation unbrauchbar machen. Nur bei bestimmten Tensidkonzentrationen kann die Partikelgröße gehalten werden. Allerdings ist dies nur für mannithaltige Formulierungen in WO 96/14830 beschrieben. Mannitol wird bekanntlich als Suspensionsstabilisator eingesetzt [A. H. Kibbe, Handbook of pharmaceutical excipients, Pharmaceutical Press, 2000]. Auch der Einsatz von Mannitol zu Stabilisationszwecken nach dem Prinzip der  
"preferential exclusion" ist hinlänglich bekannt [T. Rock, Wissensbasierte Entwicklung von Parenteralen Peptidlösungen und Lyophilisaten, Shaker Verlag, 1999]; hierdurch können hydrophobe Wechselwirkungen bzw. Aggregationsvorgänge wirksam unterbunden werden. Da solche Vorgänge in Suspensionen der Auslöser für Partikelwachstum sein können, ist die Kombination Mannit/Tween® 80, wie im Beispiel beschrieben, ein wirksames Mittel, eine Hitzesterilisation zu ermöglichen. Allerdings ist eine Mannitkonzentration von 16,7% aufgrund der sich ergebenden Hyperosmolarität zu hoch  
für eine inhalative Applikation der Formulierung, die ermöglichte Verringerung der eingesetzten Tensidmenge in diesem Zusammenhang unbedeutend. Auch die durch den Mannitzusatz erhöhte Viskosität einer solchen Suspension kann deren Einsatzmöglichkeiten stark einschränken. Eine erfolgreiche Hitzesterilisation ohne Mannitzusatz ist in WO 96/14830 nicht beschrieben.

[0022] Für die Verwendung von wässrigen Suspensionen mit Partikelgrößen von 400–4000 nm, die als Arzneimittel zur Inhalation verwendet werden sollen ist es erforderlich, dass diese physikalisch-chemisch stabil sind und es während der Lagerung zu keinem Partikelwachstum, z. B. infolge "Ostwald Ripening", kommt. Suspensionen und insbesondere solche mit Partikelgrößen kleiner 4 µm sind i. d. R. sehr temperaturempfindlich, da sich die Löslichkeit der Wirkstoffe mit Zunahme der Temperatur erhöht und es zuerst zur An- bzw. Auflösung der ganz kleinen und später auch der größeren Partikel kommt. Beim Abkühlvorgang können diese präzipitieren oder auskristallisieren oder als Impfkristalle zu einem  
Partikelwachstum führen. Alternativ kommt es, bedingt durch den Erwärmungs- und Abkühlvorgang zu einer Erhöhung der interpartikulären Anziehungskräfte, was zu Agglomerationen und damit auch zum Partikelwachstum führt. Derartige Prozesse zu unterbinden und die Partikelgrößenverteilung trotz Erwärmung und Abkühlung in einem engen Spektrum zu halten, stellt formulierungstechnisch eine immense Herausforderung dar, die bislang nicht bewältigt werden konnte. Dies  
ist u. a. aus dem Patentanspruch Nr. 11c des US-Patentes 5,510,118 ersichtlich, aus dem eine Temperaturbegrenzung von 40°C für einen Zerkleinerungsprozess mittels "Microfluidization" zur Herstellung einer Nanosuspension angegeben wird.

[0023] Die pulmonale oder nasale Verabreichung einer wässrigen Mikro- oder Nanosuspension mittels einem Vernebler setzt jedoch voraus, dass das Produkt sterilisiert werden kann. Eine Sterilfiltration durch einen 0,2 µm Filter ist aber dann nicht möglich, wenn die suspendierten Partikel einen Durchmesser aufweisen der größer als 200 nm ist. Demzufolge müssen diese Produkte durch andere gebräuchliche Verfahren, wie z. B. Hitze- und/oder Druck oder Gammasterilisation keimfrei gemacht werden. Das US-Patent 5,470,583 weist auf eben dieses Problem hin und beschreibt ein Verfahren als erfinderisch, in dem eine Nanosuspension in Anwesenheit von Tyloxapol und Phospholipen bei 121°C über 20 min hitzesterilisiert werden kann ohne dass es zu einer Agglomeration bzw. Veränderung der Partikelgröße des Diagnostikums WIN 8883 kommen soll. Die Herstellung der Nanosuspension erfolgte jedoch mittels eines Nassmahlverfahrens unter Verwendung von ZrO und weiteren Substanzen, wie z. B. Magnesiumsilikat, Glas als Mahlhilfsmittel, deren Einfluss auf den Sterilisationsprozess nicht untersucht und dargelegt wurde. Die inhalationstoxikologische Unbedenklichkeit der im US-Patent 5,470,583 verwendeten Substanzen und des über 24 Stunden dauernden Zerkleinerungsverfahrens ist jedoch nicht belegt, weshalb dessen Brauchbarkeit für die vorgesehene Anwendung nicht gegeben ist.

[0024] Im Patent von Nanosystems (WO 00/27363), wird die Herstellung einer Nanosuspension zur Inhalation mit einem nicht wässrigen Solvens gemäß einem Nassmahlverfahren beschrieben, ohne dass Hinweise zur Sterilisation derselben gegeben und Untersuchungen bzw. Nachweise hierzu vorgelegt werden. Wie bereits oben dargelegt wurde, dürfen aber wässrige Zubereitungen, wie Lösungen und Suspensionen aufgrund arzneimittelrechtlicher Vorschriften und ethischen Gründen nur in steriler Form zur Inhalation mittels Verneblern verwendet werden.

#### Aufgabe der Erfindung

[0025] Zur Überwindung der Nachteile, der in Patenten und Literatur beschriebenen Verfahren wurde nach Lösungs-

ansätzen gesucht, wasserunlösliche bzw. lipophile Substanzen möglichst mit einem technisch gut kontrollierbaren, etablierten Verfahren so zu zerkleinern und zu umhüllen bzw. zu benetzen, dass man wässrige Submikron-Suspensionen (SMS) erhält:

- 5     – die nach der Zerkleinerung einem stabilen physikalisch-chemischen Aggregatzustand aufweisen,
- die Verwendung inhalationstoxikologisch unbedenklicher Hilfsstoffe erlauben,
- in einem Autoklaven bei 110–121°C und 1–2 bar Überdruck sterilisiert werden können,
- durch den nachfolgenden Sterilisationsprozess eine Partikelgrößenverteilung aufweisen, die nur unwesentlich beeinflusst wird,
- 10    – deren resultierendes Partikelgrößenverteilungsmuster bei verschiedenen Lagerungsbedingungen und -zeiten im Vergleich zu einer nicht hitzesterilisierten Submikron Suspensionen möglichst unverändert bleibt, und
- die sich ähnlich wie Lösungen auch in hohen Konzentrationen vernebeln lassen.

[0026] Gelöst wurde die Aufgabe durch ein Verfahren zur Herstellung einer sterilen flüssigen Zubereitung zur pulmonalen Applikation eines in Wasser schwerlöslichen Wirkstoffs nach Anspruch 1. Gemäss der Erfindung lassen sich wässrige Wirkstoffdispersionen von Budesonid in Konzentrationen von 0.01%, 0.1% und 1% (G/V) nach Suspendieren mit einem Ultra-Turrax und anschließendem Homogenisieren durch ein Hochdruck unterstütztes Kollisionsstrahl-Mahlverfahren nach 40–50 Zyklen in eine Budesonid Submikron-Suspensionen (BSS) mit einem sehr engen Partikelverteilungsspektrum von 350–550 nm überführen, wie aus Abb. 1 entnommen werden kann. Aus Abb. 1 geht hervor, dass in Anwesenheit von 0.5% Tyloxapol der Partikelzerkleinerungsprozess effizienter ist als in Anwesenheit von 0.5% Polysorbat 80. Der Einfluss der verschiedenen Homogenisationszyklen bei einem Druck von je 1500 bar ist in Abb. 2 für drei verschiedene Budesonid Konzentrationen (0.01%, 0.1% und 1%) unter Verwendung von 0.5% Polysorbat 80 dargestellt. Aus der Abbildung geht hervor, dass für eine Budesonid Konzentration von 0.1% und 1% bereits nach 40 Zyklen keine weitere Partikelzerkleinerung mehr erreicht werden kann.

[0027] Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass nach Autoklavieren der beiden BSS für 15 min bei 121°C und 1 bar Überdruck, nur diejenige Suspension hinsichtlich des Partikelgrößenverteilung relativ unbeeinflusst bleibt, die mit 0.5% Polysorbat 80 stabilisiert wurde, während diejenige, die mit 0.5% Tyloxapol stabilisiert wurde, nach der Hitzesterilisation bis zu 10fach größere Partikel aufweist, wie aus Abb. 3 ersichtlich ist. Die Sterilisation der Polysorbat 80 haltigen BSS konnte auch ohne Zusatz von Mannitol erfolgreich durchgeführt werden. Hierdurch können gegenüber bereits beschriebenen Suspensionen die Hilfstoffmenge reduziert, und durch die niedrige resultierende Viskosität die Vernebelbarkeit verbessert werden.

[0028] Kurzzeitstabilitätsprüfungen bei 3 Bedingungen über 30 Tage der hitzesterilisierten und nicht sterilisierten Formulierung ergaben keine lagerungsabhängigen Veränderungen in Bezug auf die Partikelgröße, wie aus Abb. 4 ersichtlich ist. Hieraus kann gefolgert werden, dass die mit dem beschriebenen Hochdruckhomogenisationsverfahren erhaltenen Submikron Partikel nur unter Verwendung von 0.5% Polysorbat 80, aber nicht mit 0.5% Tyloxapol so stabilisiert werden, dass deren partikulärer Aggregationszustand erhalten bleibt.

[0029] Überraschenderweise wurde weiter gefunden, dass die mittlere Größe der suspendierten Arzneistoffpartikel dieser mit Polysorbat 80 stabilisierten BSS auch durch vernebelungsbedingte Scherkräfte nur unwesentlich beeinflusst wird. Es werden ähnliche Partikelgrößenverteilungen erhalten wie mit der Ausgangssuspension und zwar unabhängig davon, ob das Aerosol durch Vernebelung mit einem Kompressor-Düsenvernebler (PARI LC STAR®) oder einem elektronischen Schwingmembran Vernebler mit Poren von ca. 3 µm (e-Flow™) erzeugt wird, wie Abb. 5 entnommen werden kann.

[0030] Überraschenderweise wurde desweiteren gefunden, dass die Vernebelungseffizienz mit den erfindungsgemäßen BSS verbessert werden kann, wie aus Abb. 6 ersichtlich ist. Man findet im Vergleich zu einer Pulmicort® Budesonid Mikrosuspension (mittlere Partikelgröße ca. 4 µm) nach der Vernebelung weitaus höhere Wirkstoffmengen auf einem Inhalationsfilter. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass sich die erfindungsgemäße BSS weitaus effizienter vernebeln lässt als herkömmliche Mikro-Suspensionen.

[0031] Desweiteren wurde gefunden, dass im Gegensatz zur Lehre von Nanosystems (WO 00/27363), bei der Vernebelung wässriger Formulierungen mit einem Düsenvernebler ein Aerosol erzeugt wird, dessen aerodynamisches Depositionsverhalten und MMAD sowie inhalierbarer Anteil (= fine particle fraction = FPF), primär von der Tröpfchengröße des Aerosols und weniger von der Partikelgröße abhängig ist. Dies ist in Tabelle 1 für die erfindungsgemäße BSS im Vergleich zu dem Handelsprodukt Pulmicort® (Mikro-Suspension) und Sultanol® (Salbutamolsulfat-Lösung) nach Vernebelung von je 2 ml mit den PARI LC STAR® dargestellt. Deutliche Unterschiede ergeben sich nur hinsichtlich der Wirkstoffmenge, die auf dem Inhalationsfilter gefunden wurde, was aber auf die höhere Wirkstoffkonzentration der BSS zurückzuführen ist.

Tabelle 1

	Sultanol®	Pulmicort®	Budesonid PARI	
Anteil < 6 µm in %	88.2	84.9	84.1	5
Partikelgröße MMAD in µm	3.7	5.1	4.6	10
GSD	1.8	2.0	2.1	
Tröpfchengröße MMD in µm	3.7	3.7	3.8	15
GSD	1.7	1.7	1.7	
Anteil auf Inspirationsfilter in %	31.2	27.6	45.4	20
Anteil auf Expirationsfilter in %	13.3	10.7	17.5	25
Rückstand im Vernebler	49.9	59.7	36.2	

[0032] Die Ergebnisse lassen ferner den Schluss zu, dass sich diese BSS auch in einer bis zu 20fach höheren Konzentration im Vergleich zu Pulmicort® eher wie eine Lösung verhalten. Hieraus ergeben sich sowohl gegenüber einer Lösung als auch gegenüber herkömmlichen Suspensionen folgende Vorteile:

- Wasserunlösliche oder schlecht wasserlösliche Wirkstoffe lassen sich in wässrige Formulierungen überführen, die schneller und mit höherer Effizienz als handelsübliche Suspensionen vernebelt werden können.
- Die Wirkstoffdepositionsraten der erfindungsgemäßen Formulierungen auf dem Inspirationsfilter sind deutlich höher als bei handelsüblichen Formulierungen.
- Der Rückstand im Vernebler ist deutlich geringer als bei handelsüblichen Formulierungen, was eine bessere Verwertbarkeit ermöglicht.
- Die Beladungsdichte und -homogenität der Tröpfchen wird im Vergleich zu einer handelsüblichen Suspension verbessert.
- Die aerodynamischen Parameter werden durch die Teilchengröße nicht in dem Umfang beeinflusst, wie dies in der PCT US 99/26799 beschrieben ist, denn der MMAD wird nicht wesentlich erniedrigt.
- Das Depositionsverhalten und damit Partikelgrößenverteilungsmuster wird überwiegend durch die Eigenschaften des Verneblers und weniger durch die Formulierung bestimmt, wie dies in der PCT US 99/26799 beschrieben ist, denn der MMAD und die respirable Fraktion korrelieren nicht direkt mit der Teilchengröße der BSS-Partikel.

[0033] Mit der erfindungsgemäßen Zubereitung lässt sich die Wirkstoffmenge auf Inhalationsfiltern erhöhen, was darauf hinweist, dass die Beladungsdichte und -homogenität der Tröpfchen im Vergleich zu einer handelsüblichen Suspension verbessert wird. Dieser Effekt hängt wahrscheinlich mit den Oberflächen modifizierenden Eigenschaften des verwendeten Hilfsstoffes und dem Herstellverfahren zusammen und ist per se nicht allein durch die Teilchengröße bestimmt. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass im Gegensatz zur Lehre von PCT/US 99/26799 die aerodynamischen Aerosolparameter überwiegend durch die vom Vernebler erzeugte Tröpfchengröße bestimmt wird. Eine effizientere und schnellere Vernebelung und ein geringerer Rückstand im Vernebler wird dadurch erreicht, dass ein Tröpfchen mehrere kleinere Partikel transportieren kann und diese durch die Oberflächenmodifikation mit Polysorbat 80 eine geringere Adhäsion an Wandungen aufweisen.

[0034] Beispiele zur Herstellung von BSS und anderer Formulierungen sind nachfolgend aufgeführt.

#### Beispiel 1

[0035] 1 g Budesonid werden in 100 ml isotonischer Kochsalzlösung in der 0.5% Polysorbat 80 gelöst sind mittels eines Ultra-Turrax 1 min bei 10.000 Umdrehungen/min suspendiert. Die Suspension wird in einen Microfluidizer M110EH bei einem Druck von 1500 bar bis zu 50 x rundgepumpt. Jeweils 0,5 ml werden nach 10, 20, 30, 40 und 50 Homogenisationszyklen entnommen und die Partikelgröße an hand von 3 x 100 µl Aliquots der Proben mit einem Malvern MasterSizer 2000 und einen Malvern ZetaSizer 3000HSA bestimmt. Die resultierende Budesonid Submikron Suspension (BSS) wird danach in einem geschlossenen Glasgefäß 15 min bei 121°C und 1 bar Überdruck hitzesterilisiert. Nach dem Erkalten werden jeweils 2 ml davon mit einer sterilen Pipette in einer Sterilbank in zuvor sterilisierte blow fill seal Ampullen abgefüllt und verschweißt. Die Partikelgröße von jeweils drei 100 µl Aliquoten wird wie oben beschrieben be-



stimmt.

#### Beispiel 2

- 5 [0036] 0,1 g Fluticason-propionat und 0,025 g Salmeterol werden in 100 ml Wasser für Injektionszwecke in dem 0.25% Polysorbat 80 gelöst sind mittels eines Ultra-Turrax 1 min bei 10.000 Umdrehungen/min suspendiert. Die Suspension wird in einen Microfluidizer M110EH bei einem Druck von 1500 bar bis zu 40 × rundgepumpt. Jeweils 0,5 ml werden nach 10, 20, 30 und 40 Homogenisationszyklen entnommen und die Partikelgröße an Hand von 3 × 100 µl Aliquots der Proben mit einem Malvern MasterSizer 2000 und einen Malvern ZetaSizer 3000HSa bestimmt. Die resultierende Submikron Suspension (SMS) wird danach in einem verschlossenen Glasgefäß 15 min bei 121°C und 1 bar Überdruck hitzesterilisiert. Nach dem Erkalten werden jeweils 2 ml davon mit einer sterilen Pipette in einer Sterilbank in zuvor sterilisierte blow fill seal Ampullen abgefüllt und verschweißt. Die Partikelgröße von jeweils drei 100 µl Aliquoten wird wie oben beschrieben bestimmt.

#### 15 Beispiel 3

- [0037] 0,1 g Budesonid und 0,01 g Formoterol werden in 100 ml Wasser für Injektionszwecke in dem 0.25% Polysorbat 80 gelöst sind mittels eines Ultra-Turrax 1 min bei 10.000 Umdrehungen/min suspendiert. Die Suspension wird in einen Microfluidizer M110EH bei einem Druck von 1500 bar bis zu 40 × rundgepumpt. Jeweils 0,5 ml werden nach 10, 20, 30 und 40 Homogenisationszyklen entnommen und die Partikelgröße an Hand von 3 × 100 µl Aliquots der Proben mit einem Malvern MasterSizer 2000 und einen Malvern ZetaSizer 3000HSa bestimmt. Die resultierende Budesonid Submikron Suspension (BSS) wird danach in einem Glasgefäß bei 121°C und 1 bar Überdruck 15 min hitzesterilisiert. Nach dem Erkalten werden jeweils 2 ml davon mit einer sterilen Pipette in einer Sterilbank in zuvor sterilisierte blow fill seal Ampullen abgefüllt und verschweißt. Die Partikelgröße von jeweils drei 100 µl Aliquoten wird wie oben beschrieben bestimmt.

#### Beispiel 4

- 30 [0038] 0,25 g Mometason-furoat und 0,05 g Thiotropium werden in 100 ml 0,8%iger Kochsalzlösung, die mit einen Citratpuffer auf pH 7,4 eingestellt ist und 0.25% Polysorbat 80 gelöst enthält mittels eines Ultra-Turrax 1 min bei 10.000 Umdrehungen/min suspendiert. Die Suspension wird in einen Microfluidizer M110EH bei einem Druck von 1500 bar bis zu 30 × rundgepumpt. Jeweils 0,5 ml werden nach 10, 20 und 30 Homogenisationszyklen entnommen und die Partikelgröße an Hand von 3 × 100 µl Aliquots der Proben mit einem Malvern MasterSizer 2000 und einen Malvern ZetaSizer 3000HSa bestimmt. Die resultierende Submikron Suspension (SMS) wird danach in einem verschlossenen Glasgefäß 15 min bei 121°C und 1 bar Überdruck 15 min hitzesterilisiert. Nach dem Erkalten werden jeweils 2 ml davon mit einer sterilen Pipette in einer Sterilbank in zuvor sterilisierte blow fill seal Ampullen abgefüllt und verschweißt. Die Partikelgröße von jeweils drei 100 µl Aliquoten wird wie oben beschrieben bestimmt.

#### Beispiel 5

- 40 [0039] 2 g Budesonid werden in 100 ml isotonischer Kochsalzlösung in der 0.5% Polysorbat 80 gelöst sind mittels eines Ultra-Turrax 1 min bei 10.000 Umdrehungen/min suspendiert. Die Suspension wird in einen Microfluidizer M110EH bei einem Druck von 1500 bar bis zu 50 × rundgepumpt. Jeweils 0,5 ml werden nach 10, 20, 30, 40 und 50 Homogenisationszyklen entnommen und die Partikelgröße an hand von 3 × 100 µl Aliquots der Proben mit einem Malvern MasterSizer 2000 und einen Malvern ZetaSizer 3000HSa bestimmt. Die resultierende Budesonid Submikron Suspension (BSS) wird danach in einem verschlossenen Glasgefäß bei 121°C und 1 bar Überdruck 15 min hitzesterilisiert. Nach dem Erkalten werden jeweils 2 ml davon mit einer sterilen Pipette in einer Sterilbank in zuvor sterilisierte blow fill seal Ampullen abgefüllt und verschweißt. Die Partikelgröße von jeweils drei 100 µl Aliquoten wird wie oben beschrieben bestimmt. Vor der Anwendung wird die Suspension mittels 0,5%iger steriler Tween® 80 Lösung auf einen Budesonidgehalt von 10 mg/ml verdünnt.

#### Beispiel 6

- 55 [0040] 1 g Ciclosporin A werden in 100 ml isotonischer Kochsalzlösung in der 1% Polysorbat 80 gelöst sind mittels eines Ultra-Turrax 1 min bei 10.000 Umdrehungen/min suspendiert. Die Suspension wird in einen Microfluidizer M110EH bei einem Druck von 1500 bar bis zu 50 × rundgepumpt. Jeweils 0,5 ml werden nach 10, 20, 30, 40 und 50 Homogenisationszyklen entnommen und die Partikelgröße an hand von 3 × 100 µl Aliquots der Proben mit einem Malvern MasterSizer 2000 und einen Malvern ZetaSizer 3000HSa bestimmt. Die resultierende Submikron Suspension (SMS) wird danach in einem Glasgefäß bei 121°C und 1 bar Überdruck 15 min hitzesterilisiert. Nach dem Erkalten werden jeweils 2 ml davon mit einer sterilen Pipette in einer Sterilbank in zuvor sterilisierte blow fill seal Ampullen abgefüllt und verschweißt. Die Partikelgröße von jeweils drei 100 µl Aliquoten wird wie oben beschrieben bestimmt.

#### Beispiel 7

- 65 [0041] 5 g Ketoconazol werden in 100 ml isotonischer Kochsalzlösung in der 1% Polysorbat 80 gelöst sind mittels eines Ultra-Turrax 1 min bei 10.000 Umdrehungen/min suspendiert. Die Suspension wird in einen Microfluidizer M110EH bei einem Druck von 1500 bar bis zu 50 × rundgepumpt. Jeweils 0,5 ml werden nach 10, 20, 30, 40 und 50 Homogenisationszyklen entnommen und die Partikelgröße an hand von 3 × 100 µl Aliquots der Proben mit einem Malvern

MasterSizer 2000 und einen Malver ZetaSizer 3000HSa bestimmt. Die resultierende Submikron Suspension (SMS) wird danach in einem Glasgefäß 15 min bei 121°C und 1 bar Überdruck hitzesterilisiert. Nach dem Erkalten werden jeweils 2 ml davon mit einer sterilen Pipette in einer Sterilbank in zuvor sterilisierte blow fill seal Ampullen abgefüllt und verschweißt. Die Partikelgröße von jeweils drei 100 µl Aliquoten wird wie oben beschrieben bestimmt.

5

#### Beispiel 8

[0042] 1 g Budesonid wird in 100 ml isotonischer Kochsalzlösung in der 1% Polysorbat 80 gelöst sind mittels eines Ultra-Turrax 1 min bei 10.000 Umdrehungen/min suspendiert. Die Suspension wird in einen Microfluidizer M110EH bei einem Druck von 1500 bar bis zu 50 × rundgepumpt. Jeweils 0,5 ml werden nach 10, 20, 30, 40 und 50 Homogenisationszyklen entnommen und die Partikelgröße an hand von 3 × 100 µl Aliquots der Proben mit einem Malvern MasterSizer 2000 und einen Malver ZetaSizer 3000HSa bestimmt. Die resultierende Submikron Suspension (SMS) wird danach in einem Glasgefäß 15 min bei 121°C und 1 bar Überdruck hitzesterilisiert. Nach dem Erkalten werden jeweils 2 ml davon mit einer sterilen Pipette in einer Sterilbank in zuvor sterilisierte blow fill seal Ampullen abgefüllt und verschweißt. Die Partikelgröße von jeweils drei 100 µl Aliquoten wird wie oben beschrieben bestimmt. Vor der Vernebelung wird die Suspension mittels einer sterilen Kochsalzlösung, die 0,025% Ipratropiumbromid und 0,1% Salbutamolsulphat im Verhältnis 1 : 1 verdünnt.

10

15

#### Patentansprüche

20

1. Verfahren zur Herstellung einer sterilen flüssigen wässrigen Zubereitung zur pulmonalen Applikation eines in Wasser schwerlöslichen Wirkstoffs in Form eines Aerosols, **gekennzeichnet durch** die folgenden Schritte:

(a) Herstellung einer wässrigen Suspension, welche den schwerlöslichen Wirkstoff in Form von Partikeln mit einer mittleren Teilchengröße von mehr als 1 µm und ein gelöstes Tensid enthält;

(b) Anwendung eines Teilchengrößenreduktionsverfahrens bis zur Zerkleinerung der suspendierten Wirkstoffpartikel auf eine mittlere Teilchengröße von weniger als 1 µm; und

25

(c) Anwendung eines Hitzesterilisationsverfahrens bis zur Abtötung der in der Suspension enthaltenen pathogenen Keime unter Aufrechterhaltung eines mittleren Partikeldurchmesser des suspendierten Arzneistoffes von kleiner 2 µm.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der schwerlösliche Wirkstoff aus der Gruppe der Kortikosteroide, Betasympathomimetika, Anticholinergika, Immunmodulatoren, Antiinfektiva, Cytostatika stammt umfassend Budesonid, Ciclesonid, Fluticason, Mometason, Beclomethason, Flunisolid; Formoterol, Salmeterol, Levalbuterol; Thiotropium, Oxitropium, Ipratropium; Ciclosporin, Tacrolimus, Azathioprin; Ciprofloxacin, Moxifloxacin, Azithromycin, Clarithromycin, Erythromycin, Metronidazol, Ketoconazol, Itraconazol, Clotrimazol, Bifonazol, Fluconazol, Amphotericin B, Natamycin, Nystatin, Aciclovir, Famciclovir, Valaciclovir, Didanosin, Saquinavir, Ritonavir, Lamivudin, Stavudin, Zidovudin; Carmustin, Lomustin, Taxol, Etoposid, Cis-Platin sowie den pharmazeutisch akzeptablen Derivaten, nicht wasserlöslichen Salzen, Enantiomeren, Racematen, Epimeren, oder Diastereomeren eines dieser Wirkstoffe ausgewählt ist.

30

35

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Tensid Polysorbat 80 (Tween® 80) ist.

4. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Tensidgehalt der Suspension etwa 0,01 bis 2,0% und vorzugsweise 0,05 bis 0,5% beträgt.

40

5. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Teilchengrößenreduktionsverfahren ein zyklisches Hochdruckhomogenisationsverfahren bzw. ein Kollisionsstrahl-Mahlverfahren ist.

6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass mehr als 20 Homogenisationszyklen durchgeführt werden.

45

7. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Teilchengrößenreduktionsverfahren bis zum Erreichen einer mittleren Teilchengröße von weniger als etwa 850 nm, bestimmt als z-average, durchgeführt wird.

8. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Hitzesterilisationsverfahren bei einer Temperatur von etwa 100 bis 130°C und unter erhöhtem Druck durchgeführt wird.

50

9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Hitzesterilisationsverfahren bei einer Temperatur von etwa 110°C oder etwa 121°C und unter erhöhtem Druck durchgeführt wird.

10. Flüssige Zubereitung zur pulmonalen Applikation in Form eines Aerosols, dadurch gekennzeichnet, dass die Zubereitung einen in Wasser schwerlöslichen Wirkstoff in Form von suspendierten Partikeln mit einer mittleren Teilchengröße von 500 nm bis 2 µm enthält und steril ist.

55

11. Flüssige Zubereitung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass der schwerlösliche Wirkstoff aus der Gruppe der Kortikosteroide, Betasympathomimetika, Anticholinergika, Immunmodulatoren, Antiinfektiva, Cytostatika stammt umfassend Budesonid, Ciclesonid, Fluticason, Mometason, Beclomethason, Flunisolid; Formoterol, Salmeterol, Levalbuterol; Thiotropium, Oxitropium, Ipratropium; Ciclosporin, Tacrolimus, Azathioprin; Ciprofloxacin, Moxifloxacin, Azithromycin, Clarithromycin, Erythromycin, Metronidazol, Ketoconazol, Itraconazol, Clotrimazol, Bifonazol, Fluconazol, Amphotericin B, Natamycin, Nystatin, Aciclovir, Famciclovir, Valaciclovir, Didanosin, Saquinavir, Ritonavir, Lamivudin, Stavudin, Zidovudin; Carmustin, Lomustin, Taxol, Etoposid, Cis-Platin sowie den pharmazeutisch akzeptablen Derivaten, nicht wasserlöslichen Salzen, Enantiomeren, Racematen, Epimeren, oder Diastereomeren eines dieser Wirkstoffe ausgewählt ist.

60

12. Flüssige sterile Zubereitung zur pulmonalen Applikation in Form eines Aerosols, dadurch gekennzeichnet, dass diese durch ein Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9 hergestellt wird.

65

13. Flüssige sterile Zubereitung nach einem der Ansprüche 10 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass sie mehr als einen Wirkstoff enthält und auch als steriles Kombinationsprodukt vernebelt werden kann.

14. Flüssige sterile Zubereitung nach einem der Ansprüche 10 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass sie weitgehend isotonisch ist, einen physiologisch verträglichen pH-Wert aufweist und gegebenenfalls weitere inhalationstoxikologisch unbedenkliche Hilfsstoffe, wie z. B. Aromatisierungs- und Komplexierungsmittel (Mannitol, Cyclodextrine, etc.) enthält.

5 15. Verwendung einer flüssigen Zubereitung nach einem der Ansprüche 10 bis 14 zur Vernebelung in einem nach dem Ultraschallprinzip, Düsenprinzip, elektrohydrodynamischen, mit einer vibrierenden Membran oder mit Poren definierter Größe arbeitenden Vernebler, wie z. B. e-Flow™, AeroNeb™, AeroDose™ oder AERx™.

16. Verwendung nach Anspruch 15 zur Inhalation durch Menschen oder andere Säugetiere zu therapeutischen, prophylaktischen oder diagnostischen Zwecken.

10 17. Verwendung nach Anspruch 16 zur lokalen Therapie der Nasenschleimhaut oder der Lunge.

18. Verwendung nach Anspruch 16 zur systemischen Therapie.

---

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

---

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -

Abb. 1

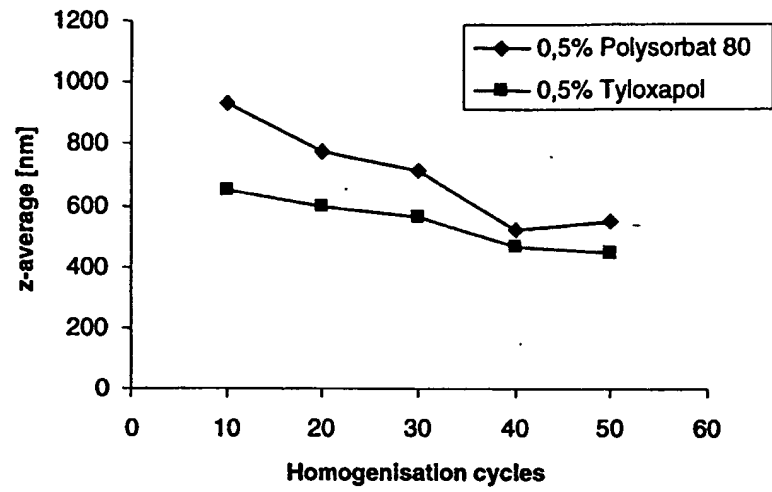


Abb. 2

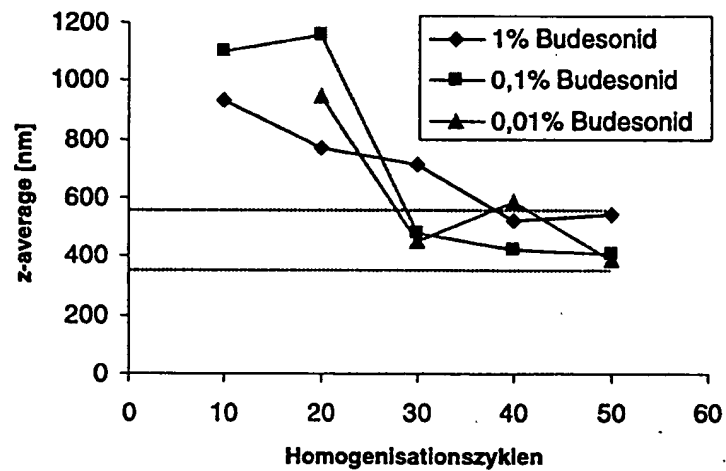


Abb. 3

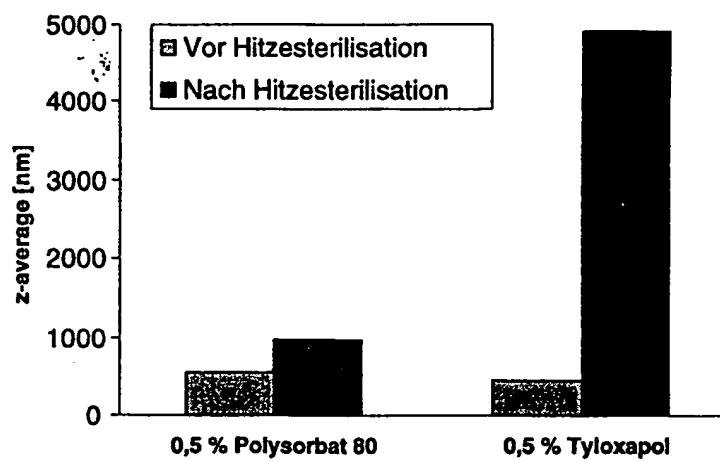


Abb. 4

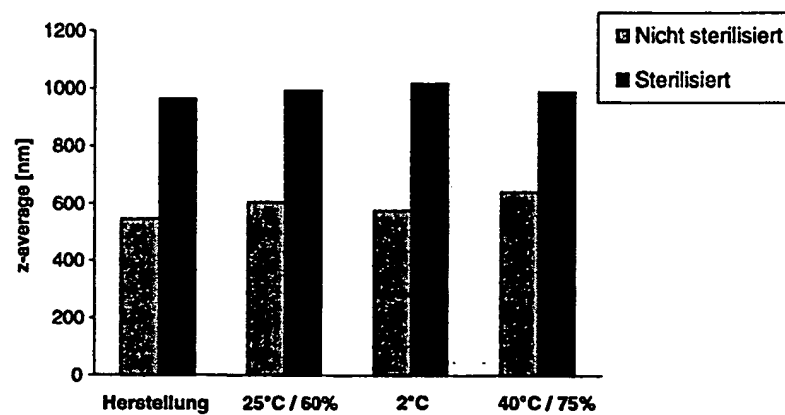


Abb. 5

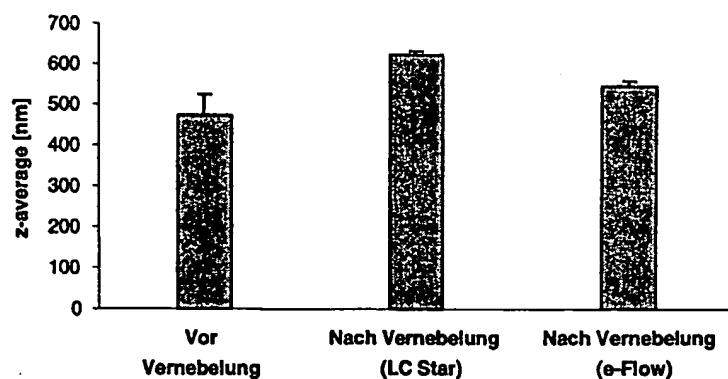
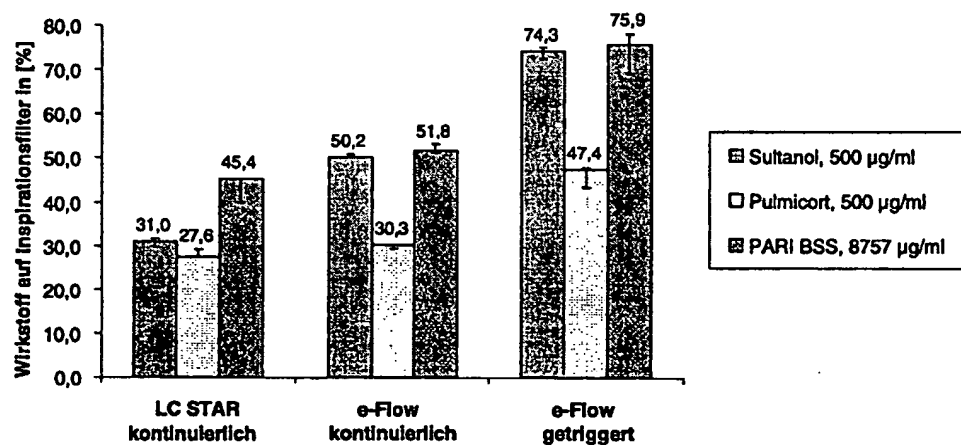


Abb. 6



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**